

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE
OCHRANY ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY
OF ENVIRONMENTAL PROTECTION

STUDIUM PRŮNIKU „MUSK“ SLOUČENIN DO ABIOTICKÝCH
A BIOTICKÝCH SLOŽEK VODNÍCH EKOSYSTÉMŮ

AUTOREFERÁT DIZERTAČNÍ PRÁCE
PHD THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

Ing. LIBOR ZOUHAR

BRNO 2013



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY
ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF
ENVIRONMENTAL PROTECTION

STUDIUM PRŮNIKU „MUSK“ SLOUČENIN DO ABIOTICKÝCH A BIOTICKÝCH SLOŽEK VODNÍCH EKOSYSTÉMŮ

STUDY OF TRANSFER OF MUSK COMPOUNDS IN ABIOTIC
AND BIOTIC COMPONENTS OF AQUATIC ECOSYSTEMS

AUTOREFERÁT DOKTORSKÉ DIZERTAČNÍ PRÁCE
SUBSTANTIAL RESULTS OF DOCTORAL THESIS

Dizertační práce byla vypracována v rámci prezenčního studia doktorského studijního programu Chemie a technologie ochrany životního prostředí na Fakultě chemické Vysokého učení technického v Brně.

Autor práce:

Author

Ing. Libor Zouhar

Vedoucí práce:

Supervisor

prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.

Dizertační práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího dizertační práce a děkana FCH VUT.

Vysoké učení technické v Brně

Fakulta chemická

Purkyňova 464/118

612 00 Brno

KLÍČOVÁ SLOVA

musk sloučeniny, vůně, odpadní voda, čistírna odpadních vod, ultrafiltrace, ryby, mikroextrakce na tuhou fázi, zrychlená extrakce rozpouštědlem, plynová chromatografie, hmotnostní spektrometrie

KEYWORDS

musk compounds, fragrance, wastewater, wastewater treatment plant, ultrafiltration, fish, solid phase microextraction, pressurized solvent extraction, gas chromatography, mass spectrometry

ISBN (80-214-)
ISSN (1213-4198)

OBSAH:

1. ÚVOD.....	5
2. TEORETICKÁ ČÁST	6
2.1 Charakteristika musk sloučenin.....	6
2.2 Fyzikálně-chemické a environmentální vlastnosti musk sloučenin	7
2.3 Musk sloučeniny v životním prostředí a na čistírnách odpadních vod	8
2.4 Toxicita musk sloučenin.....	9
2.5 Analytické stanovení musk sloučenin	10
3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	12
3.1 Sledované analyty.....	12
3.2 Sledované matrice a použitý preanalytický postup	12
3.2.1 Odpadní voda z čistírny odpadních vod Brno – Modřice	12
3.2.2 Odpadní voda z kosmetické firmy Dermacol, a.s.	13
3.2.3 Svalovina rybího druhu jelec tloušť	14
3.3 Identifikace a kvantifikace analytů.....	16
4. VÝSLEDKY A DISKUZE.....	17
4.1 Stanovení nitromusk a polycyklických musk sloučenin v odpadní vodě z ČOV Brno – Modřice	17
4.2 Stanovení lineárních musk sloučenin v odpadní vodě z ČOV Brno – Modřice	19
4.3 Stanovení nitromusk a polycyklických musk sloučenin v průmyslové odpadní vodě z kosmetické firmy Dermacol, a.s.	21
4.4 Stanovení nitromusk a polycyklických musk sloučenin ve svalovině ryb....	23
5. ZÁVĚR.....	26
6. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	29
7. PROFIL AUTORA.....	33
8. PUBLIKAČNÍ ČINNOST.....	35

1 ÚVOD

Syntetické musk sloučeniny (syntetické vonné látky) představují relativně novou skupinu perzistentních organických polutantů běžně se vyskytujících v životním prostředí. Tyto chemické sloučeniny se v rozsáhlém měřítku používají k aromatizaci různých typů detergentů, kosmetických výrobků, parfémů a dalších produktů osobní péče. Po použití těchto přípravků dochází k jejich vypouštění do městské kanalizace, odkud se prostřednictvím odpadních vod dostávají na čistírnu odpadních vod (ČOV). Vzhledem k často nedostatečné účinnosti čistícího procesu na ČOV dochází k pronikání musk sloučenin do vodního ekosystému; odpadní vody lze proto považovat za primární zdroj znečištění životního prostředí syntetickými vonnými látkami. Musk sloučeniny jsou vesměs perzistentní a lipofilní, a proto mají schopnost biokoncentrace v různých typech vodních organismů; dokonce byly detekovány i v lidské tkáni a tělních tekutinách. Také bylo zjištěno, že řada musk sloučenin patří mezi potencionálně nebezpečné látky. Použití některých syntetických vonných látek bylo úplně zakázáno v důsledku jejich, a to již prokázaných, toxických vlastností. Dosud však máme nedostatečné znalosti o environmentálních vlastnostech těchto chemických sloučenin, zejména o jejich vlivu na životní prostředí i na samotného člověka, a proto je nutné, a to s ohledem na velký rozsah jejich použití, studovat tyto sloučeniny pro bližší specifikaci jejich vlastností.

Tato práce se zabývá stanovením vybraných musk sloučenin (ze skupiny nitromusk, polycyklických a lineárních musk sloučenin) v odpadní vodě z ČOV Brno – Modřice a ve vodní biotě (rybách) odlovené v blízkosti této čistírny odpadních vod. Protože jsou sladkovodní ryby součástí potravních řetězců i pro člověka, mohou se musk sloučeniny takto dostávat až do lidského organismu.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 CHARAKTERISTIKA MUSK SLOUČENIN

Syntetické vonné látky (syntetické musk sloučeniny) od konce 19. století postupně nahrazují, a to z ekonomických důvodů, přírodní vonné látky (cca 200), které lidstvo používalo po celé svoje historické období. Syntetické musk sloučeniny jsou ve velké míře používány především jako vonné přísady nebo fixátory vůní u výrobků denní spotřeby, např. v kosmetice a hygienických produktech (parfémy, mýdla, šampóny, pleťová mléka), dále se přidávají do prášků na praní, osvěžovačů vzduchu a vonných olejů. Většina látek ze skupiny musk sloučenin jsou lipofilní a perzistentní, a proto se mohou bioakumulovat v tukové tkáni organismů [1].

Syntetické musk sloučeniny můžeme rozdělit do 4 skupin, a to na *nitromusk* sloučeniny (NMS), *polycyklické* musk sloučeniny (PMS), *lineární* musk sloučeniny (LMS) a *makrocyclické* musk sloučeniny.

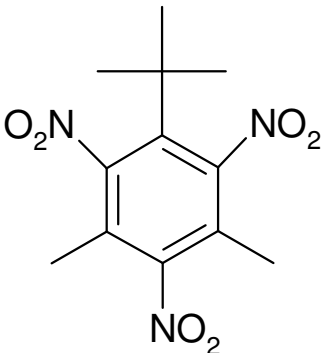
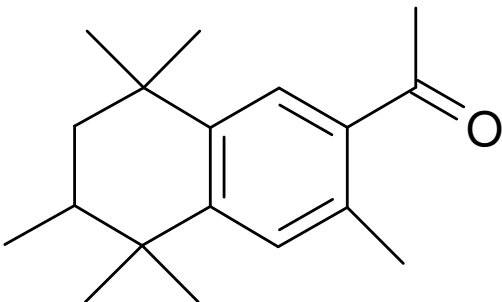
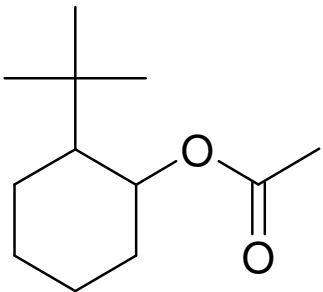
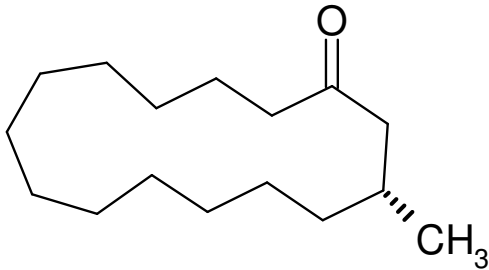
Nitromusk sloučeniny (substituované dinitro- a trinitro- deriváty benzenu) začaly být široce využívány již od počátku 20. století jako náhražky přírodního pižma a jako fixativum přidávané do vonných produktů [2]. Nízká cena a snadnost výroby způsobila masivní průmyslové používání těchto látek. Celosvětová roční produkce nitromusk sloučenin činila v roce 1987 přibližně 2 500 tun. Prokazatelné toxické účinky a objevy těchto látek v životním prostředí (od 80. let 20. století) způsobily omezení spotřeby a nahrazení těchto látek sloučeninami ze skupiny polycyklických musk sloučenin, zejména v posledních desetiletích. Nejznámějšími zástupci nitromusk sloučenin jsou musk xylen (MX) a musk keton (MK) [3].

Polycyklické musk sloučeniny jsou ve větší míře používány od poloviny 20. století a mezi nejvýznamnější zástupce patří galaxolid (HHCB) a tonalid (AHTN). Společným strukturním znakem je indanový, tetralinový, případně isochromanový skelet, který je substituován zejména methylovými skupinami. V roce 1996 byla celosvětová roční produkce polycyklických musk sloučenin 5 600 tun, z nichž 90 – 95 % připadalo na HHCB a AHTN [4, 5], přičemž v Evropě se ke konci 90. let produkovalo již 1 800 tun HHCB + AHTN za rok. Při analýzách složek životního prostředí (ŽP) bylo zjištěno, že obecně se vyskytuje HHCB ve vyšších koncentracích než AHTN. Důvodem je větší rozsah výroby i použití HHCB [6].

Lineární (alicyklické) a **makrocyclické** musk sloučeniny patří mezi syntetické vonné látky, které jsou vyráběné a aplikované do produktů osobní péče v poslední době. Jejich neustálý vývoj a použití vyplývá z neuspokojivých environmentálních a zejména potenciálních toxických vlastností nitromusk i polycyklických musk sloučenin. Makrocyclické musk sloučeniny obvykle obsahují v molekule 10 – 15 uhlíků, které jsou propojeny do jednoduchého cyklu, a navíc obsahují ketonovou nebo laktonovou skupinu. Výroba makrocyclických musk sloučenin je finančně nákladnější, a proto stále reprezentují jen minoritní část musk sloučenin dostupných

na trhu. Mezi nejdůležitější zástupce této skupiny patří Ambrettolid, Muscon a Globalid [7].

Lineární musk sloučeniny jsou po chemické stránce cykloalkyl estery; příkladem může být Cyklomusk, Arocet a Helvetolid. Lineární a makrocyclické musk sloučeniny jsou pro ŽP přívětivější z důvodu mnohem lepší biodegradovatelnosti, a proto se dá do budoucna očekávat vzrůst jejich spotřeby na úkor nebezpečnějších musk sloučenin [7, 8].

	
musk xylen	tonalid
nitro-musk sloučenina	polycyklická musk sloučenina
	
arocet	muscon
lineární musk sloučenina	makrocyclická musk sloučenina

Obrázek 1: Přehled zástupců z jednotlivých skupin musk sloučenin

2.2 FYZIKÁLNĚ-CHEMICKÉ A ENVIRONMENTÁLNÍ VLASTNOSTI MUSK SLOUČENIN

Syntetické musk sloučeniny jsou obvykle pevné krystalické látky nebo kapaliny nasládlé vůně. Patří mezi semivolatilní organické látky nepolárního charakteru; díky své lipofilitě se dobře rozpouští v tucích a dobře se mísí s nepolárními organickými rozpouštědly. Relativní molekulová hmotnost musk sloučenin se běžně pohybuje v rozmezí 200 – 300 a tlak nasycených par stoupá od relativně málo těkavých nitromusk sloučenin k vysoce těkavým lineárním musk sloučeninám [1].

Z fyzikálně-chemických vlastností dále vyplývají jejich environmentální vlastnosti. Látky ze skupiny nitromusk a polycyklických musk sloučenin mají stabilní struktury, což má za následek zvýšenou odolnost vůči rozkladu (perzistenci). Rovněž vykazují ubikvitární výskyt, a to zejména ve vodním prostředí, a proto jsou zařazeny mezi novodobé perzistentní organické polutanty (POPs). Hodnoty log K_{ow} jsou u všech čtyř skupin vyrovnané, mírně vyšších hodnot dosahují polycyklické musk sloučeniny (5,7 pro AHTN) [1].

Rychlost mineralizace musk sloučenin je sice nízká, avšak ve vhodném prostředí může docházet k částečné (bio)degradaci. Bylo prokázáno, že například galaxolid a tonalid biodegradují v aktivovaném kalu na polárnější oxidační produkty. Nitromusk sloučeniny podléhají v anaerobním (redukčním) prostředí metabolizaci na aminometabolity, jejichž vlastnosti se mohou významně lišit od mateřských sloučenin. V důsledku lipofilních vlastností a relativně snadné adsorpci na organickou hmotu se musk sloučeniny snadno biokoncentrují v živých organismech, případně se akumulují v sedimentech (kalech) [9, 10].

Sloučeniny ze skupiny makrocyclických a lineárních musk sloučenin mají relativně bezpečnější vlastnosti ve vztahu k životnímu prostředí, protože snadněji dochází k (bio)degradaci.

2.3 MUSK SLOUČENINY V ŽIVOTNÍM PROSTŘEDÍ A NA ČISTÍRNÁCH ODPADNÍCH VOD

Primárním zdrojem kontaminace ŽP musk sloučeninami jsou zejména vypouštěné odpadní vody (efluent z ČOV) a následně aplikace čistírenských kalů v zemědělství [11]. Výskyt musk sloučenin v ŽP je proto dlouhodobě studován zejména ve vodních ekosystémech. Kontaminace říční vody, ryb a sedimentů syntetickými musk sloučeninami je nejvyšší pod velkými městskými aglomeracemi; dále po proudu v důsledku zředování, degradace a sorpčních jevů klesá [12].

Rozsáhlý monitoring musk sloučenin (HHCB, AHTN, MX, MK) prováděný v období let 1996 – 2000 ve vodním ekosystému (řeky Labe, Vltava, Tichá Orlice) na území ČR odhalil, že syntetické musk sloučeniny představují všudypřítomné kontaminanty českých řek i přítomné bioty. Typické koncentrační spektrum jednotlivých musk sloučenin v rybách bylo následující: HHCB > AHTN >> MX ≥ MK. Nitromusk sloučeniny MX a MK byly v rybách (jelec / cejn / parma / okoun / pstruh) běžně zjišťovány řádově v koncentracích desetiny až setiny mg.kg^{-1} tuku; polycyklické musk sloučeniny HHCB a AHTN se vyskytovaly řádově v desetinách až jednotkách mg.kg^{-1} tuku. Ve vyšetřovaných rybách byla prokázána přítomnost aminoderivátů musk sloučenin (zejména 4-NH₂-MX), často v koncentracích vyšších než mateřská látka, ze které vznikají biotransformací [13, 14].

Německá studie [15], pocházející z roku 2001, byla zaměřena na posouzení zatížení různých znečištěných oblastí (v oblasti Berlína) polycyklickými musk sloučeninami; průměrný obsah galaxolidu (pro středně znečištěnou oblast) zjištěný

v povrchové vodě byl $0,23 \mu\text{g.l}^{-1}$ (pro AHTN $0,07 \mu\text{g.l}^{-1}$), v odpadní vodě (efluentu) z ČOV $6,85 \mu\text{g.l}^{-1}$ (pro AHTN: $2,24 \mu\text{g.l}^{-1}$), v sedimentu $0,22 \text{mg.kg}^{-1}$, vztaženo na sušinu (pro AHTN: $0,26 \text{mg.kg}^{-1}$) a ve svalovině úhoře říčního $117 \mu\text{g.kg}^{-1}$ ž.hm., respektive $658 \mu\text{g.kg}^{-1}$, vztaženo na tuk (pro AHTN: $53 \mu\text{g.kg}^{-1}$ ž.hm.; $287 \mu\text{g.kg}^{-1}$, vztaženo na tuk). Analyty galaxolid a tonalid patřily k nejčastěji detekovaným a nejhojněji zastoupeným musk sloučeninám ve všech studovaných složkách životního prostředí a rovněž ve všech zkoumaných lokalitách. V odpadní vodě však byly detekovány i ostatní studované analyty (phantolid, traseolid, celestolid), a to v koncentracích o 1 řád nižších. Ve vzorcích úhořů, kde bylo identifikováno všech 5 polycyklických musk sloučenin, byla průměrná distribuce analytů následující: galaxolid (61 %), AHTN (31 %), phantolid + traseolid + celestolid celkově 8 %. Vypočtená hodnota biokoncentračního faktoru (BCF) pro přestup z vody do tkání úhoře (za přirozených podmínek) byla pro galaxolid 862 a pro tonalid 1069. Porovnání průměrných koncentrací galaxolidu v 15 jezerech a řekách z oblasti okolí Berlína s koncentracemi prokázanými ve tkáních úhořů prokázalo souvislost mezi obsahem musk sloučenin ve vodní biotě (úhoři) a obsahem v povrchové vodě, kde ryby žijí. Obsah musk sloučenin v povrchové vodě je přímo závislý na množství efluentu z ČOV, respektive na četnosti ČOV v dané oblasti [15].

Účinnost odstranění musk sloučenin z odpadní vody se často pohybuje v rozmezí 50 – 90 %, v řadě případů však může být tato účinnost i menší. Důvodem tohoto širokého rozpětí je existence mnoha faktorů, na kterých je účinnost odstranění závislá. Mezi hlavní patří velikost dané ČOV (závisí na počtu ekvivalentních obyvatel), typ odpadní vody (komunální / průmyslová) a použité čistírenské technologie [16].

V další studii prováděné v Německu (2004) byly sledovány koncentrace HHCB a AHTN v odpadní vodě z ČOV a v čistírenském kalu. Průměrná koncentrace v influentu byla pro HHCB 1941ng.l^{-1} a pro AHTN 583ng.l^{-1} . V kalu byla stanovená koncentrace pro HHCB $3\,068 \text{ng.g}^{-1}$ a pro AHTN $1\,525 \text{ng.g}^{-1}$. Bylo zjištěno, že cca 35 % obou sloučenin procházelo čistícím procesem nezměněno a bylo vypouštěno do řeky. Průměrná koncentrace v efluentu z ČOV byla pro HHCB 695ng.l^{-1} a pro AHTN 212ng.l^{-1} . Dominantním procesem pro odstranění zmíněných musk sloučenin na ČOV byla sorpce na kal. Samotná biodegradace je na ČOV pouze minoritním procesem [9].

2.4 TOXICITA MUSK SLOUČENIN

Akutní toxicita musk sloučenin je nízká (hodnoty LD_{50} u hlodavců se řádově pohybují v jednotkách g.kg^{-1}), mnohem závažnější roli mohou hrát potencionální chronické účinky, které přicházejí v úvahu při dlouhodobém zatížení organismů nízkými koncentracemi těchto látek. Syntetické musk sloučeniny se běžně nacházejí nejen v ŽP a biotě, ale dokonce i v lidské tukové tkáni, mateřském mléku a v krvi [6, 17, 18, 19].

Musk xylen a musk keton jsou silné induktory jaterních enzymů (prokázáno na potkanech; zvětšení hmotnosti jater) a působí jako kogenotoxikanty [2, 20]. Musk xylen aplikovaný na kůži způsobuje pouze slabý senzitivní efekt; avšak při pokusech na myších byly u této sloučeniny prokázány karcinogenní účinky [21]. Aminometabolity nitromusk sloučenin mají schopnost atakovat DNA a zasahovat do biochemických reakcí v buňkách [10].

Polycyklické musk sloučeniny nevykazovaly v řadě provedených testů mutagenní (genotoxický) potenciál. Patří však, podobně jako nitromusk sloučeniny, mezi endokrinní disruptory (hormonálně aktivní látky) [22, 23, 24]. Vyšší dávky galaxolidu i tonalidu podávané pravidelně v potravě potkanům vedly ke snížení přírůstku tělesné hmotnosti, v porovnání s kontrolou, a ke zvětšení hmotnosti jater u sledovaných pokusných zvířat [25, 26, 27].

2.5 ANALYTICKÉ STANOVENÍ MUSK SLOUČENIN

Musk sloučeniny jsou semivolatilní organické látky, které se v posuzovaných složkách životního prostředí vyskytují ve stopových koncentracích. Této skutečnosti musí být podřízen celý analytický proces jejich stanovení, který lze rozdělit do několika navazujících kroků. Pro získání věrohodných výsledků je nutné používat ověřené metody (předem optimalizované) se stanovenými validačními parametry. Během provádění analýz by mělo být důsledně dbáno na účinná opatření zabráňující sekundární kontaminaci vzorků a pomůcek.

Analytické stanovení musk sloučenin začíná odběrem vzorku, který je klíčovým bodem celého analytického postupu. Cílem odběru je získat reprezentativní vzorky, které budou správně reprezentovat sledovanou lokalitu. Vzhledem k výskytu musk sloučenin se nejčastěji odebírají vzorky (odpadní) vody, kalů, sedimentu, případně bioty (např. ryb).

K izolaci analytů z matrice se používají různé extrakční techniky. Mezi běžné typy extrakce analytů z pevných matric patří Soxhletova extrakce, extrakce ultrazvukem, mikrovlnná extrakce a metoda zrychlené extrakce rozpouštědlem (PSE). Jako extrakční činidlo pro izolaci musk sloučenin je možné použít například směs aceton / dichlormethan (1:1, v/v) nebo aceton / hexan (1:1, v/v) [28, 29]. Pro izolaci analytů z vody lze použít klasickou extrakci kapalina-kapalina, metodu extrakce tuhými fázemi (SPE), případně techniku mikroextrakce na tuhý fázis (SPME) [30, 31]. Pro stanovení musk sloučenin technikou SPME se nejčastěji doporučuje směsné vlákno PDMS/DVB [32, 33, 34].

V řadě případů je zapotřebí extrakt ještě přechistit z důvodu odstranění znečišťujících nebo interferujících látek (např. lipidy), k čemuž se využívá zejména metoda adsorpční kolonové chromatografie (na sorbentech florisil, silikagel), gelová permeační chromatografie (GPC), extrakce tuhými fázemi (SPE), případně dialýza [30]. Při analýze musk sloučenin lze pro přechistění pomocí adsorpční kolonové

chromatografie použít jako sorbent silikagel a jako eluční činidlo octan ethylnatý s acetonem [28, 35].

S ohledem na semivolatilitu a termostabilitu musk sloučenin a jejich nepolární charakter se jako optimální analytická metoda, vhodná pro jejich stanovení, používá metoda plynové chromatografie s hmotnostně-spektrometrickou detekcí (nejčastěji je využívána elektronová ionizace a kvadrupólový analyzátor). Pro analýzu musk sloučenin se běžně používají kapilární kolony DB-5MS, HP-5MS, případně DB-5 [16, 18, 28, 31, 32, 33, 36].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Cílem dizertační práce bylo stanovení úrovně kontaminace vodní bioty a ověření, jak tato kontaminace souvisí s omezenou účinností čistícího procesu odpadních vod, který je aplikován na ČOV Brno – Modřice. Rovněž byly zjišťovány vybrané musk sloučeniny v průmyslové odpadní vodě z kosmetické firmy Dermacol, a.s., kterou lze obecně považovat za bodový zdroj znečištění odpadních vod musk sloučeninami. Pro izolaci vybraných musk sloučenin z pevné matrice (rybí tkáň) byla použita metoda tlakové extrakce rozpouštědlem (PSE); pro izolaci analytů z kapalné matrice (odpadní voda) metoda mikroextrakce tuhou fází (SPME). Vzhledem k nízkým koncentracím cílových analytů v reálných vzorcích byla jako analytická metoda aplikována metoda vysokorozlišovací plynové chromatografie s hmotnostní detekcí (GC/MS).

3.1 SLEDOVANÉ ANALYTY

Pro experimentální část dizertační práce bylo zvoleno celkem 14 analytů ze skupiny nitromusk sloučenin [musk ambrette (AMB), musk xylen (MX), musk mosken (MOS), musk tibeten (TIB), musk keton (MK)], polycyklických musk sloučenin [phantolid (PH), traseolid (TR), galaxolid (HHCB), tonalid (AHTN)] a lineárních musk sloučenin [linalool 925 (LIN), arocet (AR), aroflorone (AF), lilial (LIL), isoamyl salicylate (ISO)]. Vybrané analyty ze skupiny nitromusk a polycyklických musk sloučenin byly zvoleny na základě dostupných studií, ze kterých vyplývá jejich rozsáhlé použití v minulosti, které u některých látek pokračuje až do současnosti. Analyzované syntetické vonné látky ze skupiny lineárních musk sloučenin jsou v současné době široce používány; použité standardy pochází z produkce společnosti AROMA Praha, a.s.

3.2 SLEDOVANÉ MATRICE A POUŽITÝ PREANALYTICKÝ POSTUP

3.2.1 Odpadní voda z čistírny odpadních vod Brno – Modřice

V odpadní vodě z ČOV Brno – Modřice bylo stanovováno všech 14 analytů ze skupiny nitromusk, polycyklických musk a lineárních musk sloučenin. Pro izolaci analytů z reálných vzorků odpadních vod byla používána metoda SPME, jejíž jednotlivé parametry byly předem optimalizovány. Optimalizace metody spočívala v analýze destilované vody se stále stejným přídávkem standardu za postupné změny jednotlivých parametrů izolačního postupu. Jednotlivá měření byla prováděna vždy třikrát a získané odezvy, pokud nevykazovaly velkou odchylku, byly zprůměrovány.

V rámci stanovení NMS a PMS byl optimalizován typ vlákna [PDMS (100 µm); PDMS/DVB (65 µm); PA (85 µm)], provedení mikroextrakce [head space / direct immersing], teplota sorpce [60 / 70 / 80 / 90 °C] a čas sorpce [5 / 10 / 20 / 30 / 40 / 50 min].

Při stanovení LMS byl optimalizován typ vlákna [PDMS (100 µm); PDMS/DVB (65 µm); PA (85 µm); DVB/CarboxenTM/PDMS Stable FlexTM (50/30 µm)], provedení mikroextrakce [head space / direct immersing], vliv vysolování (3,75 g NaCl), teplota sorpce [20 / 40 / 60 / 80 / 90 / 100 °C] a čas sorpce [10 / 20 / 30 / 40 / 60 min].

Vzorky OV (přítok P + odtok O) na ČOV Brno – Modřice byly pravidelně odebrány každý den v měsíci únoru 2010 (1. 2. – 28. 2. 2010; 28 dní), pro stanovení NMS a PMS, respektive v měsíci dubnu 2011 (11. 4. – 20. 4. 2011; 10 dní) pro stanovení LMS. Jednalo se vždy o 24hodinové směsné vzorky. Jednotlivé dílčí vzorky byly odebrány ve dvouhodinových intervalech automatickým odběrovým zařízením. Zadrž přechištěné vody na ČOV je 24 hodin, recipientem dané ČOV je řeka Svratka. Směsný vzorek odpadní vody odebraný na přítoku a na odtoku byl pro účely analýzy musk sloučenin plněn (po okraj) do skleněných vzduchotěsných vzorkovnic (z hnědého skla) o objemu 0,5 litru. Tyto vzorkovnice byly potom transportovány do laboratoře, kde byly vzorky co nejdříve podrobeny analýze (do zahájení analýzy byly vzorky uchovávány v lednici při teplotě 4 °C). Z důvodu nebezpečí znečištění sorpčního vlákna při přímé sorpci (SPME) byly reálné vzorky (při stanovení NMS a PMS) odpadní vody vždy před samotnou analýzou zfiltrány přes hrubší filtrační papír z důvodu odstranění hrubých nečistot. Kvantifikace analytů byla prováděna metodou standardního přídatku. Pro výpočet hodnot LOD a LOQ byly stanoveny kalibrační závislosti jednotlivých analytů. Výsledné parametry metody SPME-GC/MS a vybrané dosažené výsledky jsou uvedeny v kapitole 3.3, respektive v kapitolách 4.1 a 4.2. .

3.2.2 Odpadní voda z kosmetické firmy Dermacol, a.s.

V průmyslové odpadní vodě z kosmetické firmy Dermacol, a.s., byly pomocí optimalizované metody SPME-GC/MS stanovovány 4 vybrané musk sloučeniny, které se podle předběžných zjištění v této firmě nejvíce využívají při výrobě kosmetických přípravků, tj. galaxolid a tonalid ze skupiny PMS a musk ambrette a musk keton ze skupiny NMS.

Optimalizace metody SPME pro tyto analyty již byla provedena v rámci předchozí kapitoly; výsledné parametry, uvedené v kap. 4.1, však byly po ověření mírně modifikovány [použito vlákno PA (85 µm); objem vzorku snížen na 14 ml; čas sorpce zkrácen na 25 min].

Odpadní průmyslová voda (vzorky před ultrafiltrací a vzorky po ultrafiltraci) byla odebrána pouze v pracovní dny v období od 19. 4. do 30. 4. 2010, tj. celkem 10 dní. Vzorky byly odebrány (po okraj) do skleněných lahví z hnědého skla o objemu 0,5 litru. Odpadní voda odebraná před ultrafiltrací byla na místě zfiltrována.

Následně byly oba typy vzorků transportovány do laboratoře, kde byly co nejdříve analyzovány, případně se vzorky až do doby zahájení analýzy uchovávaly v lednici při teplotě 4 °C. Vzorky odpadní vody (**před UF**) byly silně mléčně zakaleny a při měření vykazovaly významné matriční efekty. Z tohoto důvodu bylo pro stanovení HHCB a AHTN nutné použít k naředění destilovanou vodou 1:10 (při SPME provedení head space); pro stanovení AMB a MK bylo použito naředění 1:5 (provedení přímá sorpce). Vzorky odpadní vody (**po UF**) již nevykazovaly významné matriční efekty, a proto mohly být všechny analyty stanovovány najednou, bez ředění (provedení přímá sorpce). Kvantifikace analytů byla prováděna metodou standardního přídávku. Pro výpočet hodnot LOD a LOQ byly stanoveny kalibrační závislosti jednotlivých analytů. Vybrané dosažené výsledky jsou uvedeny v kap. 4.3.

3.2.3 Svalovina rybího druhu jelec tloušť

Část experimentů prováděných v rámci dizertační práce byla zaměřena na stanovení 9 musk sloučenin (ze skupiny NMS a PMS) ve vodní biotě řeky Svatky. Biotický materiál tvořila svalová tkáň rybího druhu jelec tloušť (*Squalius cephalus*). Vzorky ryb byly odloveny dne 10.11.2009 na řece Svatce pracovníky Povodí Moravy. Pro odlov byla zvolena 2 místa, a to před ČOV Brno – Modřice (soutok Svatky a Svitavy; 49° 8' 32,45'' N; 16° 37' 41,07'' E) a za ČOV Brno – Modřice (jez mezi Rajhradem a Rajhradicemi; 49° 5' 29,42'' N; 16° 37' 11,14'' E). Celkem bylo pro analýzu musk sloučenin odloveno 60 kusů ryb (30 vzorků před ČOV a 30 vzorků za danou ČOV). Po odlovu byly ryby transportovány do laboratoře Ústavu veterinární hygieny a ekologie FVHE na Veterinární a farmaceutické univerzitě Brno, kde byly postupně vyšetřeny a dále posouzeny veterinárním lékařem. Pro analýzu musk sloučenin byla používána pouze svalovina, která byla zhomogenizována (pomocí mixéru) a následně jako zamražená (při -20 °C) uchovávána až do doby analýzy.

Pro stanovení byla používána optimalizovaná metoda, která zahrnovala zrychlenou extrakci rozpouštědlem (PSE), adsorpční kolonovou chromatografii pro přečištění extraktu (přečištění na florisilové koloně) a rozhodčí metodu GC-MS.

Pro optimalizaci **zrychlené extrakce rozpouštědlem** (PSE) byl používán reálný vzorek rybí svaloviny (3 g), který byl v třecí misce rozetřen s 6 g PSE matrix. Po kvantitativním převedení směsi do extrakční patrony (22 ml) byly ke vzorku přidány deuterované (vnitřní) standardy MX-D₁₅ (4 µl; 100 ng.µl⁻¹) a AHTN-D₃ (4 µl; 100 ng.µl⁻¹). Takto připravený vzorek byl extrahován pomocí PSE. Výsledný extrakt byl po zahuštění a přečištění na florisilové koloně převeden do cyklohexanu k finální analýze metodou GC-MS. Optimalizace metody PSE byla prováděna pomocí vyhodnocování průměrné výtěžnosti [ze 3 paralelních měření] pro jednotlivé vnitřní standardy a nastavované parametry PSE.

Hlavním cílem optimalizace bylo vybrat vhodné rozpouštědlo pro extrakci sledovaných analytů; testováno bylo použití 2 extrakčních činidel [cyklohexan (CH)

a ethylacetát (EA)], v různém zastoupení ve směsi. Konkrétní volené poměry byly následující: CH (100 %), CH:EA (75:25, v/v), CH:EA (50:50, v/v), CH:EA (25:75, v/v) a EA (100 %). Rovněž byly optimalizovány další parametry metody, a to v pořadí: teplota [100 / 110 / 120 / 140 °C], doba statické fáze [4 / 8 / 12 / 16 min] a počet cyklů [1 / 2 / 3 cykly], které měly zaručit co nejvyšší výtěžnost; zároveň měl být minimalizován potřebný čas a spotřeba rozpouštědel.

Pro přečištění extraktu byla použita metoda **adsorpční kolonové (sloupcové) chromatografie**. Jako náplň byl z důvodu přítomnosti nezanedbatelného množství tuku v reálných vzorcích zvolen florisil. Optimalizace přečištění spočívala ve výběru vhodného elučního činidla a jeho množství (objem) pro maximální eluci analytu obsaženého v modelovém extraktu (s obsahem všech sledovaných analytů). Tyto extrakty byly nanášeny na kolony naplněné florisilem a výsledné eluáty byly po zahuštění analyzovány na přístroji pro GC-MS.

Optimalizace typu elučního činidla byla provedena na základě stanovených výtěžností (průměr ze 2 paralelních pokusů) pro jednotlivé analyty při použití následujících činidel (120 ml): aceton:CH (20:80, v/v), aceton:CH (50:50, v/v), aceton: CH (80:20, v/v), EA:CH (50:50, v/v), EA:CH (80:20, v/v) a EA (100 %). Následně byla provedena optimalizace množství zvoleného elučního činidla; principem této optimalizace bylo jímání eluátu po frakcích (4×40 ml) a po jejich zahuštění a analýze (GC-MS) bylo stanoveno procentické zastoupení analytů v jednotlivých frakcích (2 paralelní stanovení).

K vlastním analýzám biotických matric byly navažovány 3 g rozmraženého vzorku rybí svaloviny (3 paralelní stanovení). Vzorek byl v třecí misce rozetřen s 5,5 g PSE matrix a kvantitativně byl převeden do extrakční patrony (22 ml). Ke vzorku byly před extrakcí přidány vnitřní deuterované standardy MX-D₁₅ (2 µl, 100 ng.µl⁻¹) a AHTN-D₃ (2 µl, 100 ng.µl⁻¹). Následovala extrakce analytů ze vzorku metodou PSE. Výsledný extrakt byl zahuštěn na rotační vakuové odparce (50 °C, 340 mbar, 50 ot.min⁻¹) na přibližně 2 ml, respektive do sucha (při stanovení obsahu tuku). Extrakt byl potom přečišťován pomocí adsorpční kolonové chromatografie (sorbent florisil). Získaný eluát byl zakoncentrován na rotační vakuové odparce; koncové zahuštění bylo provedeno pomocí 30 µl undekanu (keeper). Do baňky bylo přidáno 770 µl cyklohexanu a vzorek (výsledný objem 800 µl) byl převeden do vialky. Následovala finální analýza metodou GC-MS. Získané plochy (odezvy) byly korigovány na blank a poté byla provedena kvantifikace pomocí metody kalibrační křivky. Hodnoty byly přepočteny na konkrétní navážky vzorku a korigovány na zjištěnou výtěžnost, která byla vypočtena pomocí interních standardů (MX-D₁₅, AHTN-D₃) přidávaných ke každému vzorku před extrakcí. Stanovené kalibrační závislosti byly využity i pro výpočet hodnot LOD a LOQ. Optimalizované parametry použitých metod a vybrané výsledky jsou uvedeny v kapitole 3.3, respektive v kapitole 4.4.

3.3 IDENTIFIKACE A KVANTIFIKACE ANALYTŮ

Veškeré stanovení musk sloučenin bylo prováděno na plynovém chromatografu **GC Agilent 6890N** (Agilent Technologies). Pro analýzu byla použita kapilární kolona DB-5MS (Agilent Technologies) [30 m × 0,180 mm × 0,18 μm], nosným plynem bylo He (6.0). Byl používán hmotnostní detektor **MSD 5973N** (Agilent Technologies), který je vybaven elektronovou ionizací a kvadrupólem jako analyzátozem. Získané extrakty, kvantitativně převedené do vialek, byly dávkovány (objem 1 μl) na kolonu pomocí automatického dávkovače vzorků HP 7683 (Agilent Technologies); ovládání SPME zařízení při nástřiku bylo manuální. Pro jednotlivé typy analýz byly používány předem ověřené parametry metody, které umožnily optimální separaci. Dostačující čas pro tepelnou desorpci analytů ze SPME vlákna byl stanoven na 3 minuty. Veškeré analýzy byly prováděny v režimu analyzátoru SIM, kde byly pro každý analyt nastaveny 2 hodnoty m/z (pro kvantifikační a konfirmační ion). Režim analyzátoru SCAN byl aplikován vždy pouze na počátku měření, a to pro zjištění retenčních charakteristik analytů a jejich hmotnostních spekter.

PLYNOVÝ CHROMATOGRAF:

- Typ injektoru: split / splitless
- Dávkování: bezděličové
- Splitless time: 3 min (při použití SPME) / 1 min (při kapalném nástřiku)
- Teplota injektoru: 250 °C
- Tlak nosného plynu v injektoru: 116 kPa
- Průtok nosného plynu v injektoru: 28,5 ml.min⁻¹
- Průtok nosného plynu kolonou: 0,8 ml.min⁻¹; konstantní průtok
- Lineární rychlost nosného plynu: 40 cm.sec⁻¹
- Teplota transferline: 285 °C

Teplotní program TP1 (stanovení NMS a PMS v OV z ČOV Brno – Modřice a v rybách):

50 °C [zádrž 3 min (OV) / 1 min (biota)]; 15 °C.min⁻¹ do 110 °C; 5 °C.min⁻¹ do 165 °C (8 min); 15 °C.min⁻¹ do 285 °C (2 min) [doba analýzy: 36 / 34 min]

Teplotní program TP2 (pro stanovení NMS a PMS v průmyslové OV):

50 °C (zádrž 3 min); 25 °C.min⁻¹ do 100 °C; 10 °C.min⁻¹ do 170 °C (5 min); 5 °C.min⁻¹ do 180 °C; 30 °C.min⁻¹ do 280 °C (2 min) [doba analýzy: 24,3 min]

Teplotní program TP3 (pro stanovení LMS v OV z ČOV Brno – Modřice):

50 °C (zádrž 3 min); 10 °C.min⁻¹ do 90 °C; 5 °C.min⁻¹ do 120 °C (4 min); 10 °C.min⁻¹ do 160 °C; 5 °C.min⁻¹ do 185 °C; 20 °C.min⁻¹ do 285 °C (2 min) [doba analýzy: 33 min]

HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETR:

- Ionizační energie: 70 eV
- Teplota iontového zdroje: 230 °C
- Teplota kvadrupólu: 150 °C
- Režim analyzátoru: SIM (Dwell: 200 msec)
- Solvent delay: 17 min (při TP1) / 16 min (při TP2) / 8 min (při TP3)

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 STANOVENÍ NITROMUSK A POLYCYKlickÝCH MUSK SLOUČENIN V ODPADNÍ VODĚ Z ČOV BRNO – MODŘICE

Pro izolaci analytů z reálných vzorků byla používána optimalizovaná metoda SPME s následujícími parametry:

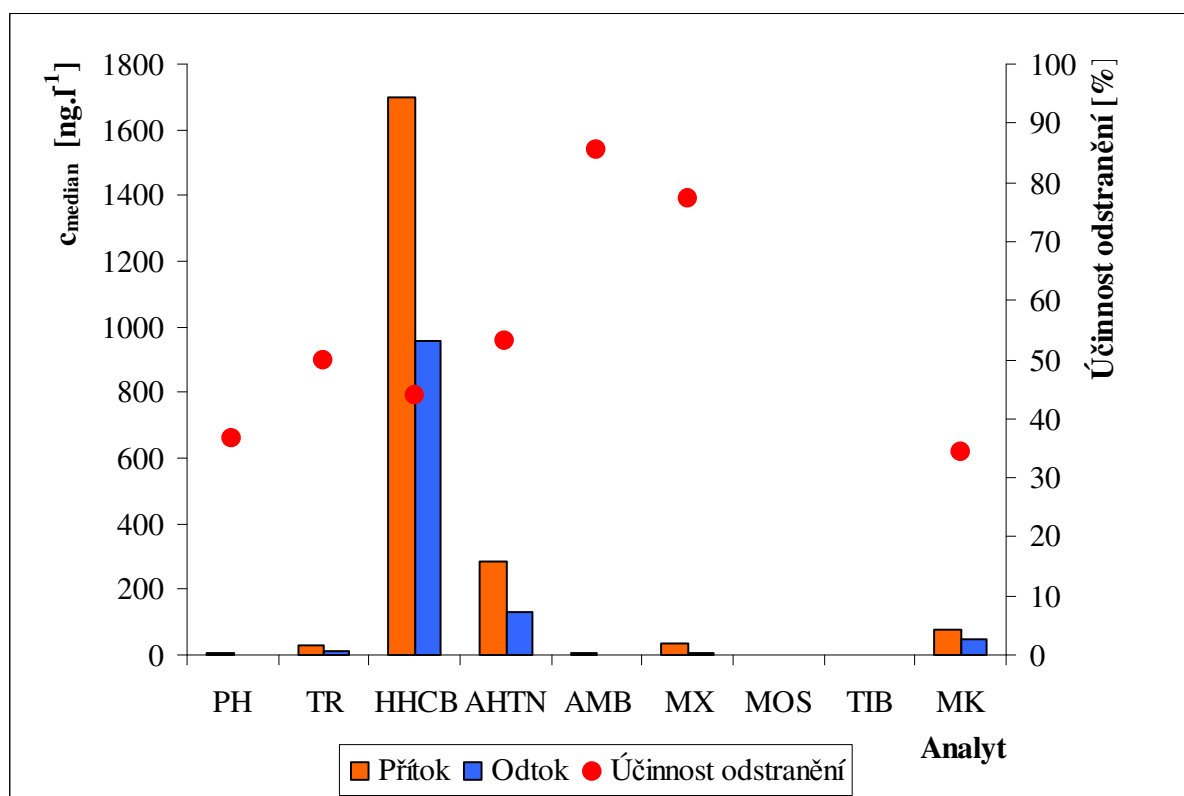
- Vlákno: PDMS/DVB; 65 μm (modré)
- Provedení: přímá sorpce (DI)
- Objem vialky: 22 ml
- Objem vzorku: 16 ml
- Teplota: 80 °C
- Ustalování rovnováhy: 5 min
- Expoziční čas: 30 min
- Rychlost míchání: 900 ot.min⁻¹

Tabulka 1: Stanovené hodnoty LOD, LOQ, nd a nq

Analyt	LOD	LOQ	nd	nq
	[ng.l ⁻¹]	[ng.l ⁻¹]	[ng.l ⁻¹]	[ng.l ⁻¹]
PH	0,106	0,353	0,053	0,230
TR	3,21	10,7	1,61	6,96
HHCB	77,0	257	38,5	167
AHTN	21,2	70,5	10,6	45,8
AMB	1,16	3,87	0,580	2,51
MX	3,91	13,0	1,95	8,47
MOS	2,16	7,19	1,08	4,68
TIB	2,00	6,67	1,00	4,34
MK	3,85	12,8	1,93	8,34

Tabulka 2: Stanovené koncentrace analytů na přítoku a odtoku z ČOV

Analyt	PŘÍTOK [ng.l ⁻¹]		ODTOK [ng.l ⁻¹]	
	Medián	Průměr	Medián	Průměr
PH	3,069	3,170	1,943	1,984
TR	29,42	33,48	14,71	14,68
HHCB	1702	2765	957,3	1231
AHTN	285,0	422,8	133,2	140,5
AMB	3,978	4,174	0,5800 (nd)	1,340
MX	37,30	40,55	8,466 (nq)	7,499
MOS	1,079 (nd)	1,079 (nd)	1,079 (nd)	1,079 (nd)
TIB	1,001 (nd)	1,001 (nd)	1,001 (nd)	1,001 (nd)
MK	74,98	90,33	49,16	55,04



Obrázek 2: Mediány koncentrací analytů na přítoku a odtoku z ČOV Brno – Modřice [ng.l⁻¹] a účinnost odstranění z OV během procesu čištění [%]

Z dosažených výsledků vyplývá, že v surové odpadní vodě byly ve všech vzorcích zjištěny kvantifikovatelné koncentrace všech analytů ze skupiny polycyklických musk sloučenin (phantolid, traseolid, galaxolid, tonalid); tyto sloučeniny byly rovněž detekovány a převážně i kvantifikovány ve všech vzorcích na odtoku z ČOV. Současně výsledky prokázaly, že koncentrace nitromusk sloučenin byly v některých případech i na přítoku pod mezí kvantifikace. Nejčastěji

byl na přítoku kvantifikován musk keton a musk xylen, naopak musk mosken a musk tibeten nebyly detekovány v žádném vzorku na přítoku ani na odtoku. Na základě hodnot zjištěných na odtoku lze konstatovat, že byl pozorován razantní úbytek nálezů s koncentracemi nad mezí stanovitelnosti pro musk xylen i musk ambrette, zatímco hodnoty MK zůstaly nezměněny. Z uvedených výsledků vyplývá, že přibližně 95 % veškerého stanoveného množství musk sloučenin (na přítoku i na odtoku) přísluší polycyklickým musk sloučeninám. Pravděpodobným důvodem je stále více omezené používání NMS vzhledem k jejich potencionálně toxickým vlastnostem. Účinnost odstranění musk sloučenin během procesu mechanicko-biologického čištění na ČOV Brno – Modřice se pohybuje pro analyty ze skupiny PMS v rozmezí 36,70 – 53,26 % (HHCB: 43,75 %); pro analyty ze skupiny NMS v rozmezí 34,44 – 85,42 %.

4.2 STANOVENÍ LINEÁRNÍCH MUSK SLOUČENIN V ODPADNÍ VODĚ Z ČOV BRNO – MODŘICE

Pro izolaci analytů z reálných vzorků byla používána optimalizovaná metoda SPME s následujícími parametry:

- Vlákno: PDMS/DVB; 65 μm (modré)
- Provedení: head space (HS)
- Přídavek NaCl: 3,75 g
- Objem vialky: 22 ml
- Objem vzorku: 14 ml
- Teplota: 80 $^{\circ}\text{C}$
- Ustabilování rovnováhy: 5 min
- Expoziční čas: 40 min
- Rychlost míchání: 900 ot.min⁻¹

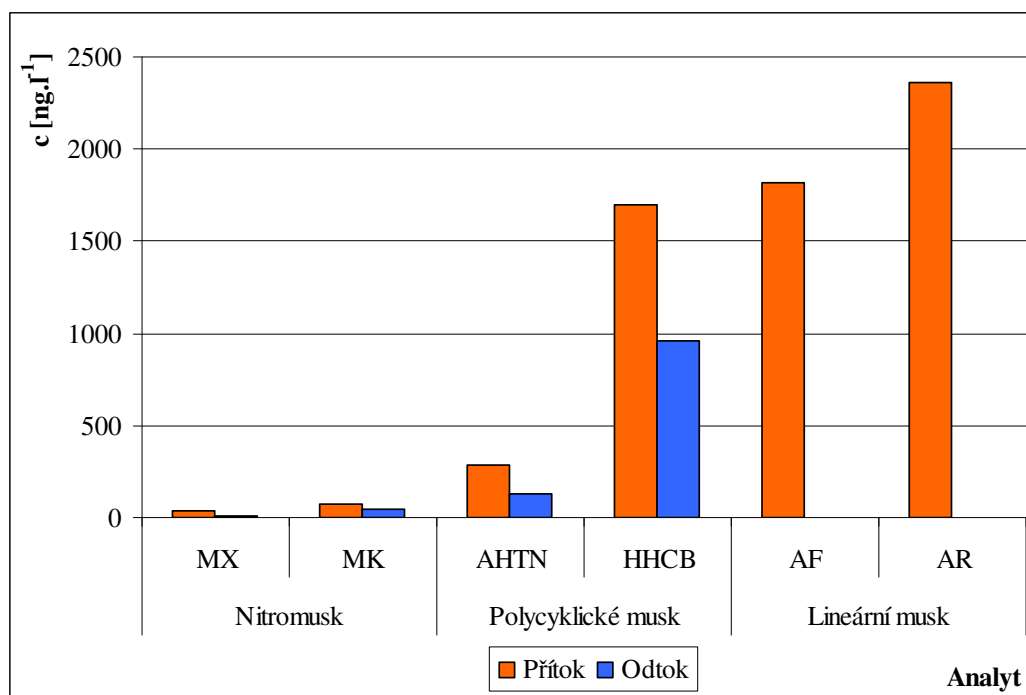
Tabulka 3: Stanovené hodnoty LOD, LOQ, nd a nq

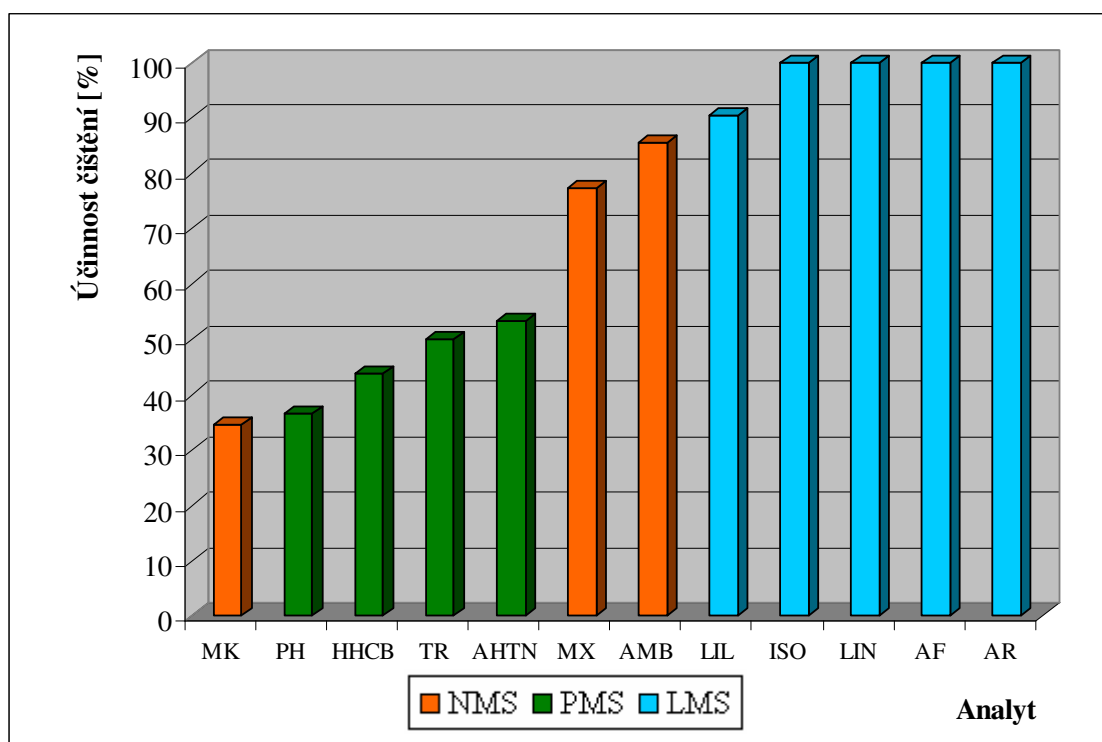
Analyt	LOD	LOQ	nd	nq
	[ng.l ⁻¹]	[ng.l ⁻¹]	[ng.l ⁻¹]	[ng.l ⁻¹]
LIN	1,23	4,11	0,617	2,67
AR	0,407	1,36	0,204	0,883
AF	1,10	3,67	0,550	2,38
LIL	0,228	0,761	0,114	0,495
ISO	0,362	1,21	0,181	0,784

Tabulka 4: Stanovené koncentrace analytů na přítoku a odtoku z ČOV

Analyt	PŘÍTOK [$\mu\text{g.l}^{-1}$]		ODTOK [$\mu\text{g.l}^{-1}$]	
	Medián	Průměr	Medián	Průměr
LIN	51,82	55,72	0,0027 (nq)	0,0462
AR	2,520	2,361	0,0002 (nd)	0,0002 (nd)
AF	1,378	1,821	0,0006 (nd)	0,0009
LIL	0,4176	0,4912	0,0489	0,0469
ISO	0,4935	0,5262	0,0008 (nq)	0,0005

Z výsledků vyplývá, že ve všech vzorcích surové odpadní vody byly přítomny všechny zkoumané analyty v koncentracích nad mezí stanovitelnosti. Toto zjištění poukazuje na běžné používání lineárních musk sloučenin, a to převážně v kosmetickém průmyslu. V rámci jednotlivých vzorkovacích dní se zjištěné koncentrace pro konkrétní analyt v některých případech značně lišily. Výrazně nejvyšších koncentrací na přítoku dosahoval analyt linalool 925 (průměrně $55,72 \mu\text{g.l}^{-1}$), u ostatních analytů byly koncentrace o 1 – 2 řády nižší. Ve vzorcích odebraných na odtoku byla koncentrace posuzovaných analytů v řadě případů pod mezí stanovitelnosti nebo pod mezí detekce, pouze lilial byl kvantifikován ve všech vzorcích na odtoku, a to i přesto, že na přítoku měl ze všech analytů nejnižší koncentrace. Z uvedených údajů vyplývá vysoká účinnost odstranění (> 99,5 %) všech analytů (kromě lilialu) na ČOV Brno – Modřice; pro lilial byla účinnost odstranění 90,5 %; jeho koncentrace na odtoku se však pohybovala v setinách $\mu\text{g.l}^{-1}$.

**Obrázek 3:** Porovnání koncentrací vybraných analytů [ng.l^{-1}] ve vzorcích OV z ČOV



Obrázek 4: Porovnání účinnosti čištění [%] z OV na ČOV pro jednotlivé analyty

Z dosažených výsledků (v kapitolách 4.1 a 4.2) vyplývá, že nitromusk sloučeniny byly sice kvantifikovány v minimálních koncentracích, avšak z důvodu svých potenciálně toxických vlastností mohou pro ŽP představovat významný zdroj rizika. Největší vliv na ŽP zřejmě mají, a to s ohledem na koncentrace i na toxikologická data, polycyklické musk sloučeniny, zejména galaxolid a tonalid. Tyto se v odpadní vodě vyskytují v relativně vysokých koncentracích a míra jejich úplného odstranění na ČOV je relativně nízká. Nejlepší účinnost čištění na ČOV a rovněž nejmenší vliv na ŽP, a to i s ohledem na toxikologická data, byl prokázán u lineárních musk sloučenin.

4.3 STANOVENÍ NITROMUSK A POLYCYKlickÝCH MUSK SLOUČENIN V PRŮMYSLOVÉ ODPADNÍ VODĚ Z KOSMETICKÉ FIRMY DERMACOL, A.S.

Tabulka 5: Stanovené hodnoty LOD, LOQ, nd a nq

Analyt	LOD	LOQ	nd	nq
	[ng.l ⁻¹]	[ng.l ⁻¹]	[ng.l ⁻¹]	[ng.l ⁻¹]
HHCb	87,7	292	43,9	190
AHTN	0,621	2,07	0,311	1,35
AMB	36,1	120	18,1	78,3
MK	0,597	1,99	0,298	1,29

Tabulka 6: Stanovené koncentrace analytů v OV před a za ultrafiltrací

Analyt	PŘED UF [$\mu\text{g.l}^{-1}$]		PO UF [$\mu\text{g.l}^{-1}$]		Účinnost UF
	Medián	Průměr	Medián	Průměr	[%]
HHCB	137,2	225,8	0,5642	0,7803	99,65
AHTN	20,25	34,74	0,1998	0,3496	98,99
AMB	0,0181 (nd)	0,0181 (nd)	0,0181 (nd)	0,0181 (nd)	////
MK	0,0003 (nd)	0,5582	0,0013 (nq)	0,0116	97,93

Z dosažených výsledků vyplývá, že v odpadní vodě odebrané v kosmetické firmě dosahovaly nejvyšších koncentrací analyty ze skupiny polycyklických musk sloučenin, galaxolid a tonalid. Tyto analyty se vyskytovaly ve všech vzorcích před UF. Naopak sledované nitromusk sloučeniny se vyskytovaly méně, musk keton byl detekován pouze v prvních 3 dnech vzorkování a musk ambrette nebyl detekován v žádném vzorku během celého vzorkování. Toto zjištění potvrzuje stále omezenější používání NMS v kosmetickém průmyslu. Kvantifikované koncentrace analytů byly v jednotlivých dnech často velmi rozdílné, což plně souvisí s nepravidelnou výrobní činností v této firmě. Vypočtená účinnost ultrafiltrace je velmi vysoká a pro detekované analyty se pohybuje v rozmezí 97,93 – 99,65 %. Podle teorie k technologii ultrafiltrace (zachycení částic o relativní molekulové hmotnosti 10^4 – 10^5), by musk sloučeniny, mající relativně nízkou molární hmotnost, neměly být vůbec zachycovány. Důvodem stanovené vysoké účinnosti ultrafiltrace pro odstranění musk sloučeniny je pravděpodobně ta skutečnost, že přечиšťovaná odpadní voda je koloidní povahy a musk sloučeniny jsou v důsledku svých lipofilních a adsorpčních schopností sorbovány na přítomných částicích, které se ultrafiltrací běžně odstraňují. Odpadní voda přечиštěná ultrafiltrací je vypouštěna do městské kanalizace ústící na ČOV Brno – Modřice. Bylo vypočteno, že za 1 rok je průměrně z dané kosmetické firmy vypuštěno 0,454 g HHCB, což však představuje příspěvek na přítoku (rovněž vyjádřeném pro 1 rok) do ČOV Brno – Modřice pouze 0,000 44 % [pro AHTN: 0,001 3 %; pro MK: 0,000 2 %]. Z dosažených výsledků vyplývá, že kosmetická firma Dermacol, a.s., s používanou ultrafiltrační technologií k přечиšťování odpadních vod, nepředstavuje významné riziko kontaminace odpadních vod musk sloučeninami. Tato kosmetická firma je pouze minoritním bodovým zdrojem znečištění odpadních vod musk sloučeninami.

4.4 STANOVENÍ NITROMUSK A POLYCYKlickÝCH MUSK SLOUČENIN VE SVALOVINĚ RYB

Tabulka 7: Optimalizované parametry PSE

Extrakční činidlo:	CH:EA (25:75, v/v)
Teplota:	120 °C
Doba statické fáze:	4 min
Počet cyklů:	3
Tlak:	140 bar
Proplach rozpouštědlem:	15 sec (2krát)
Sušení dusíkem:	1 min

Tabulka 8: Optimalizované parametry metody přečištění

Adsorbent:	florisil
Eluční činidlo:	ethylacetát (100 %)
Objem elučního činidla:	80 ml
Průtok elučního činidla:	6 kapek.min ⁻¹

Průměrná výtěžnost analytů stanovených pomocí optimalizované analytické metody SPE-GC/MS byla **92,59 ± 10,06 %** (pro analyty ze skupiny nitromusk sloučenin; stanoveno na základě dílčích výtěžností vnitřního standardu MX-D₁₅), respektive **89,76 ± 7,812 %** (pro analyty ze skupiny polycyklických musk sloučenin; stanoveno na základě dílčích výtěžností vnitřního standardu AHTN-D₃).

Tabulka 9: Stanovené hodnoty LOD, LOQ, nd a nq

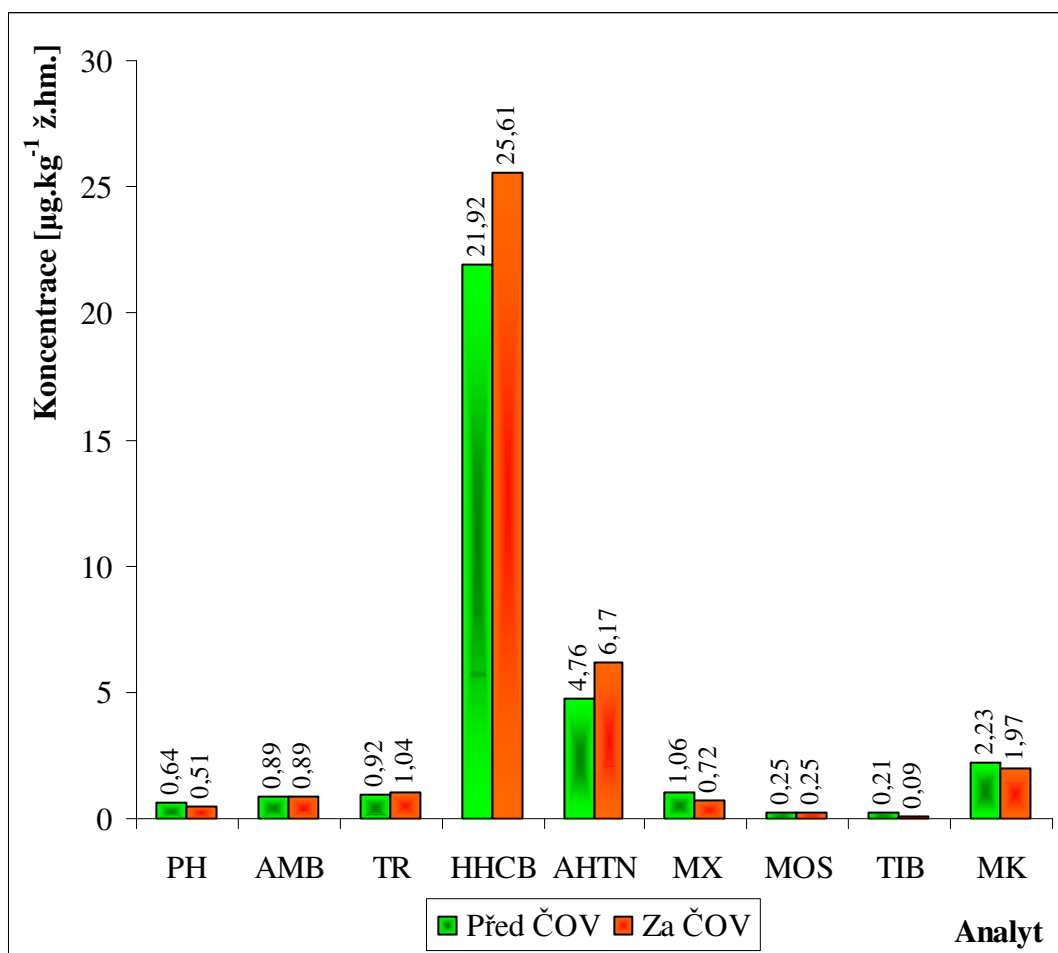
Analyt	LOD	LOQ	nd	nq
	[μg.kg ⁻¹]	[μg.kg ⁻¹]	[μg.kg ⁻¹]	[μg.kg ⁻¹]
PH	0,5454	1,818	0,2727	1,182
TR	1,105	3,684	0,5527	2,395
HHCB	8,949	29,83	4,474	19,39
AHTN	1,985	6,615	0,9923	4,300
AMB	1,464	4,880	0,7320	3,172
MX	0,7486	2,495	0,3743	1,622
MOS	0,5004	1,668	0,2502	1,084
TIB	0,1543	0,5144	0,0772	0,3344
MK	0,5705	1,902	0,2853	1,236

Tabulka 10: Stanovené koncentrace analytů ve vzorcích ryb odlovených před a za ČOV Brno – Modřice

Analyt	ODLOV PŘED ČOV [μg.kg ⁻¹ ž.hm.]		ODLOV ZA ČOV [μg.kg ⁻¹ ž.hm.]	
	Medián	Průměr	Medián	Průměr
PH	0,2727 (nd)	0,6363	0,2727 (nd)	0,5132
AMB	0,7320 (nd)	0,8947	0,7320 (nd)	0,8947
TR	0,5527 (nd)	0,9211	0,5527 (nd)	1,044
HHCB	19,39 (nq)	21,92	19,39 (nq)	25,61
AHTN	4,300 (nq)	4,757	7,370	6,170
MX	0,3743 (nd)	1,064	0,3743 (nd)	0,7158
MOS	0,2502 (nd)	0,2502 (nd)	0,2502 (nd)	0,2502 (nd)
TIB	0,0772 (nd)	0,2112	0,0772 (nd)	0,0943
MK	1,236 (nq)	2,232	1,236 (nq)	1,966

Z dosažených výsledků vyplývá, že v analyzovaných biotických vzorcích (ryby odlovené před i za ČOV) byly prokázány nejvyšší průměrné koncentrace u galaxolidu a tonalidu ze skupiny polycyklických musk sloučenin. Analyty ze skupiny nitromusk sloučenin byly identifikovány v nižších koncentracích méně často, což souvisí se stále omezenějším používáním těchto sloučenin z důvodu prokázaných potenciálně nebezpečných vlastností. Z nitromusk sloučenin byl nejčastěji detekován musk keton. Ostatní analyty se vyskytovaly převážně pod mezemi LOD a LOQ, případně nebyly vůbec detekovány (musk mosken). Charakter koncentračních úrovní analytů v jednotlivých vzorcích odlovených před ČOV se nelišil od vzorků odlovených za danou ČOV. Zastoupení i koncentrace analytů v jednotlivých vzorcích bylo velmi individuální. Průměrně 95,0 % veškerého stanoveného množství polycyklických musk sloučenin lze připsat analytům HHCB a AHTN; analyty MX a MK se podílely na celkovém stanoveném množství nitromusk sloučenin průměrně 69,7 %. Z celkové sumy musk sloučenin připadalo na PMS průměrně 87,7 % a na NMS průměrně 12,3 %.

Z výsledků porovnání průměrných koncentrací analytů ze 2 sad vzorků (odlov před a za ČOV) vyplývá, že ve vzorcích odlovených za ČOV došlo k 18,1 % nárůstu koncentrace polycyklických musk sloučenin, což potvrzuje negativní vliv ČOV Brno – Modřice na vodní ekosystém. Tato skutečnost zřejmě souvisí s rozsáhlým využíváním těchto látek (zejména AHTN a HHCB) a také s jejich relativně nízkou účinností odstranění na dané ČOV, s čímž souvisí jejich vysoký obsah ve vypouštěné odpadní vodě z příslušné ČOV.



Obrázek 5: Průměrná koncentrace analytů ve vzorcích ryb odlovených před a za ČOV Brno – Modřice [$\mu\text{g.kg}^{-1}$ ž.hm.]

5 ZÁVĚR

Cílem předložené dizertační práce bylo získání nových poznatků týkajících se problematiky musk sloučenin. Musk sloučeniny (syntetické vonné látky) představují relativně novou skupinu perzistentních organických environmentálních kontaminantů. V rámci předložené dizertační práce bylo pro sledování zvoleno 5 zástupců ze skupiny nitromusk sloučenin (NMS) [musk ambrette, musk xylen, musk mosken, musk tibeten, musk keton], 4 zástupci ze skupiny polycyklických musk sloučenin (PMS) [phantolid, traseolid, galaxolid, tonalid] a 5 zástupců ze skupiny lineárních musk sloučenin (LMS) [linalool 925, aroacet, aroflorone, lilial, isoamyl salicylate]. Konkrétním cílem této dizertační práce bylo stanovení koncentrací všech zvolených analytů v komunální odpadní vodě pocházející z města Brna a širokého okolí a posouzení účinnosti čištění na ČOV Brno – Modřice, ve vztahu k odstranění syntetických vonných látek. Vzorkování probíhalo převážně v únoru 2010 (28 dní), pro stanovení NMS a PMS, respektive v dubnu 2011 (10 dní), pro stanovení LMS. Shodné analyty ze skupiny NMS a PMS byly rovněž zjišťovány ve svalovině rybího druhu jelec tloušť (*Squalius cephalus*). Biotické vzorky (30 + 30) byly odloveny (10. 11. 2009) z řeky Svratky před a za ČOV Brno – Modřice. Posledním experimentem v rámci této dizertační práce bylo stanovení vybraných analytů (musk ambrette, musk keton, galaxolid, tonalid) v průmyslové odpadní vodě z kosmetické firmy Dermacol, a.s. a vyhodnocení účinnosti používané čistící technologie (ultrafiltrace); vzorkování probíhalo 10 dní v dubnu 2010. Stanovení analytů ve vzorcích odpadní vody bylo prováděno pomocí předem optimalizované analytické metody v uspořádání SPME-GC/MS; pro stanovení analytů ve vzorcích biotické tkáně byla použita předem optimalizovaná metoda PSE-GC/MS, která zahrnovala i přečištění extraktu pomocí adsorpční sloupcové chromatografie. Kvantifikace analytů byla prováděna metodou standardního přídatku, respektive metodou vnějšího standardu.

Z dosažených výsledků vyplývá, že v surové odpadní vodě byly přítomny všechny analyty ze skupiny polycyklických musk a lineárních musk sloučenin v koncentracích nad mezí stanovitelnosti. To svědčí o rozsáhlém používání těchto látek v průmyslu (např. kosmetickém). V odpadní vodě byly běžně detekovány, avšak v mnohem nižších koncentracích, také analyty ze skupiny nitromusk sloučenin, s výjimkou musk moskeny a musk tibetenu. Nejvyšší koncentrace v surové odpadní vodě byly prokázány u linaloolu 925 (55 720 ng.l⁻¹) a aroacetu (2361 ng.l⁻¹) ze skupiny LMS, dále galaxolidu (1702 ng.l⁻¹) a tonalidu (285,0 ng.l⁻¹) ze skupiny PMS a musk ketonu (74,98 ng.l⁻¹) a musk xyleny (37,30 ng.l⁻¹) ze skupiny NMS. Lineární musk sloučeniny pravděpodobně nepředstavují pro ŽP, vzhledem k jejich relativně snadné degradaci a z ní vyplývající vysoké míry odstranění na ČOV, významný zdroj rizika. Z tohoto pohledu jsou mnohem závažnější polycyklické musk sloučeniny (zejména galaxolid a tonalid), jejichž použití je rozsáhlé a účinnost odstranění na ČOV většinou nepřesahuje 50 %; proto byly tyto látky identifikovány v kvantifikovatelných množstvích i ve všech vzorcích

na odtoku z ČOV. Navíc lze předpokládat, že značná část těchto látek se při procesu čištění převážně sorbuje na čistírenský kal, který následně představuje zdroj rizika pro půdní systém při aplikaci kalu v zemědělství. Koncentrace musk sloučenin v odpadní vodě ani v kalu nemusí být dosud, a to s ohledem na legislativu ČR, jakkoliv monitorovány. Vodní ekosystém řeky Svatky je prostřednictvím odtoku z dané ČOV nejvíce kontaminován galaxolidem ($957,3 \text{ ng.l}^{-1}$), který proniká do recipientu v přibližném množství 48 kg za rok. Koncentrace analytů ze skupiny nitromusk sloučenin byly na odtoku z ČOV často pod mezí stanovitelnosti nebo mezí detekce (s výjimkou MK). Důvodem je mnohem nižší použití těchto látek a většinou relativně vyšší účinnost odstranění na ČOV, v porovnání se skupinou PMS. Při interpretaci výsledků však nelze opomenout tu skutečnost, že zřejmě nezanedbatelná část nitromusk sloučenin je během procesu čištění pouze metabolizována na toxikologicky závažnější aminometabolity. Proto i nitromusk sloučeniny stále představují riziko pro ŽP.

Z výsledků analýz vzorků průmyslové odpadní vody pocházející z kosmetické firmy Dermacol, a.s. vyplývá, že použití polycyklických musk sloučenin při výrobě je výrazně mnohem vyšší než použití nitromusk sloučenin, které se v kosmetickém průmyslu používají velmi omezeně. Stanovená účinnost ultrafiltrace pro musk sloučeniny je velmi vysoká (97,9 – 99,7 %), a proto lze konstatovat, že daná firma je při běžném provozu pouze minoritním (v ČOV zanedbatelným) bodovým zdrojem znečištění odpadních vod musk sloučeninami ze skupiny NMS a PMS.

Z výsledků analýz biotické tkáně vyplývá, že téměř ve všech vzorcích ryb byly identifikovány analyty galaxolid, tonalid a musk keton. Ostatní analyty se často vyskytovaly pod mezemi LOQ i LOD. Zastoupení i koncentrace analytů v jednotlivých vzorcích bylo velmi individuální; pouze v 35 % vzorků nebyla identifikována žádná musk sloučenina. Nejvyšší průměrné koncentrace byly zjištěny u polycyklických musk sloučenin galaxolidu (desítky $\mu\text{g.kg}^{-1}$ ž.hm) a tonalidu. Analyty ze skupiny nitromusk sloučenin byly kvantifikovány méně často a v nižších koncentracích; nejčastěji byl detekován musk keton (jednotky $\mu\text{g.kg}^{-1}$ ž.hm.). Při hodnocení kontaminace bioty nitromusk sloučeninami je však nutné uvažovat i přítomnost aminometabolitů, které se ve vyšetřované tkáni mohou nacházet v nezanedbatelném množství. Porovnáním jednotlivých souborů výsledků bylo konstatováno, že ČOV Brno – Modřice má významný negativní dopad na kontaminaci vodní bioty polycyklickými musk sloučeninami, zejména galaxolidem a tonalidem, což s ohledem na prokazované koncentrace těchto látek v efluentu není překvapující. Souvislost mezi obsahem musk sloučenin v rybí svalovině a obsahem tuku ve tkáni nebyla na základě experimentálních dat jednoznačně potvrzena, což se jeví, a to i s ohledem na míru lipofility musk sloučenin, jako pravděpodobné. To rovněž koreluje s hodnotami biokoncentračních faktorů (řádově stovky až tisíce), které potvrzují biokoncentrační potenciál látek ze skupiny nitromusk a polycyklických musk sloučenin. Z výsledků také vyplývá, že míra orální expozice konzumentů běžně kontaminovaných ryb je minoritní vzhledem k běžné dermální expozici prostřednictvím produktů osobní péče.

Získané výsledky potvrzují předpoklad, že hlavním zdrojem musk sloučenin v ŽP je odpadní voda, a proto lze čistírny odpadních vod považovat za bodové zdroje znečištění, zejména polycyklickými musk sloučeninami. Na znečištění ŽP musk sloučeninami se podílí všichni lidé používající produkty osobní péče; průmyslové podniky přispívají ke znečišťování, a to za předpokladu vhodně zvolené technologie čištění odpadních vod, zanedbatelným způsobem. Výsledky potvrzují ubikvitární výskyt musk sloučenin v ŽP a rovněž dokumentují přímou souvislost mezi rozsahem použití musk sloučenin a mírou výskytu jejich reziduí v potravním řetězci (vodní biotě). Zjištěné koncentrace polycyklických musk sloučenin (v odpadní vodě i v biotě) výrazně převyšují koncentrace nitromusk sloučenin, jejichž použití je v posledních desetiletích stále více omezováno, a to z důvodu potenciálních nebezpečných vlastností. V současné době se již rozsáhle používají i lineární musk sloučeniny, jejichž použití je pro ŽP z důvodu relativně snadné (bio)degradace (a odstranění na ČOV) mnohem vhodnější. Ideálním řešením pro budoucnost se jeví použití vonných látek, jejichž struktura bude odvozena od sloučenin nacházejících se v přírodě. Tím bude zajištěna biodegradovatelnost a nezatěžování ŽP cizorodými látkami. Tyto požadavky splňují makrocyclické musk sloučeniny, jejichž většímu rozšíření však brání ekonomické hledisko. Náhrada aktuálně používaných „levných“ musk sloučenin proto bude pravděpodobně dlouhotrvajícím procesem.

Většina současných používaných vonných látek je syntetického původu a v přírodě se nevyskytují. Živý systém tyto látky identifikuje jako xenobiotika a snaží se je vyloučit. Již tento poznatek logicky vypovídá o nevhodnosti těchto látek pro živé organismy. Přestože koncentrace musk sloučenin v ŽP (např. na odtoku z ČOV) jsou o několik řádů nižší než koncentrace, které vyvolají pozorovatelné efekty na vodních organismech, nelze odhadnout jejich dlouhodobý účinek na živé systémy, zejména na lidské zdraví. Skutečnost, že jsou musk sloučeniny běžně identifikovány v lidském organismu, je vysoce nepříznivá. Je téměř nemožné pomocí toxikologických studií správně vyhodnotit a číselně popsat všechny přímé a zejména i nepřímé negativní účinky nízkých koncentrací musk sloučenin a jejich metabolitů na celulární metabolismus organismů v dlouhodobém časovém horizontu. Bohužel podle současných hledisek a závěrů nejsou musk sloučeniny celosvětově považovány za tak nebezpečné, aby jejich používání všeobecně podléhalo přísnější legislativě.

Výsledkem předložené dizertační práce jsou optimalizované analytické metody pro stanovení vybraných musk sloučenin v komunální i průmyslové odpadní vodě a rovněž v biotických vzorcích. Metody ověřené na modelových vzorcích byly úspěšně použity k analýzám reálných vzorků. Tato dizertační práce svými konkrétními výsledky potvrzuje některá obecně známá fakta a kromě toho přináší i nové poznatky o výskytu musk sloučenin ve vodním ekosystému a otevírá tak prostor pro další odborné studie, které přispějí ke konečnému správnému posouzení vlivu musk sloučenin na životní prostředí.

6 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] OSPAR Commission: *The Convention for the Protection of the Marine Environment of the North-East Atlantic: Musk xylene and other musks*. London: OSPAR Commission, 2004. 45 p. ISBN 1-904426-36-0.
- [2] SCHMEISER, H. H.; GMINSKI, R.; MERSCH-SUNDERMANN, V.: Evaluation of health risks caused by musk ketone. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 2001, vol. 203, pp. 293-299.
- [3] RIMKUS, G. G.; BUTTE, W.; GEYER, H. J.: Critical considerations on the analysis and bioaccumulation of musk xylene and other synthetic nitro musks in fish. *Chemosphere*, 1997, vol. 35, pp. 1497-1507.
- [4] REINER, J. L.; KANNAN, K.: A survey of polycyclic musks in selected household commodities from the United States. *Chemosphere*, 2006, vol. 62, pp. 867-873.
- [5] RICKING, M.; SCHWARZBAUER, J.; HELLOU, J.; SVENSON, A.; ZITKO, V.: Polycyclic aromatic musk compounds in sewage treatment plant effluents of Canada and Sweden – first results. *Marine Pollution Bulletin*, 2003, vol. 46, pp. 410-417.
- [6] KANNAN, K.; REINER, J. L.; YUN, S. H.; PERROTTA, E. E.; TAO, L.; JOHNSON-RESTREPO, B.; RODAN, B. D.: Polycyclic musk compounds in higher trophic level aquatic organisms and humans from the United States. *Chemosphere*, 2005, vol. 61, pp. 693-700.
- [7] ABRAMSSON-ZETTERBERG, L.; SLANINA, P.: Macrocyclic musk compounds – an absence of genotoxicity in the Ames test and the in vivo Micronucleus assay. *Toxicology Letters*, 2002, vol. 135, pp. 155-163.
- [8] FRITTER, G.; BAJGROWICZ, J. A.; KRAFT, P.: Fragrance Chemistry. *Tetrahedron*, 1998, vol. 54, pp. 7633-7703.
- [9] BESTER, K.: Retention characteristics and balance assessment for two polycyclic musk fragrances (HHCB and AHTN) in a typical German sewage treatment plant. *Chemosphere*, 2004, vol. 57, pp. 863-870.
- [10] GIDDINGS, J. M.; SALVITO, D.; PUTT, A. E.: Acute toxicity of 4-amino musk xylene to *Daphnia magna* in laboratory water and natural water. *Water Research*, 2000, vol. 34, pp. 3686-3689.

- [11] SMYTH, S. A.; LISHMAN, L.; ALAEE, M.; KLEYWEGT, S.; SVOBODA, L.; YANG, J.-J.; LEE, H.-B.; SETO, P.: Sample storage and extraction efficiencies in determination of polycyclic and nitro musks in sewage sludge. *Chemosphere*, 2007, vol. 67, pp. 267-275.
- [12] KOCOUREK, V.; ŠETKOVÁ, L.; HAJŠLOVÁ, J.: Sledování lipofilních kontaminantů ve vybraných profilech Labe a Vltavy technikou SPMD. In *Kontaminanty a další rizikové látky v potravinách a ekosystémech: Sborník příspěvků ze XIV. semináře s mezinárodní účastí, Praha, 12.-14. září 2001*. Ed. Praha: Ústav chemie a analýzy potravin VŠCHT, Česká společnost chemická, 2001, s. 98-105. ISBN 80-7080-472-6.
- [13] HAJŠLOVÁ, J.; KOCOUREK, V.; VOLKA, K.; SUCHÁNEK, M.; BÖHM, S.; SKÁCEL, F.; TOMANIOVÁ, M.; RADOVÁ, Z.; HOLADOVÁ, K.; POUSTKA, J.; ŠETKOVÁ, L.; SUCHAN, P.: Přehled aktivit realizovaných v rámci projektu MŽP "Monitoring cizorodých látek v potravních řetězcích v ČR", výstupy vybraných pilotních studií. In *Kontaminanty a další rizikové látky v potravinách a ekosystémech: Sborník příspěvků ze XIV. semináře s mezinárodní účastí, Praha, 12.-14. září 2001*. Ed. Praha: Ústav chemie a analýzy potravin VŠCHT, Česká společnost chemická, 2001, s. 12-33. ISBN 80-7080-472-6.
- [14] HAJŠLOVÁ, J.; GREGOR, P.; CHÁDLOVÁ, V.; ALTEROVÁ, K.: Musk compounds in fish from Elbe River. *Organohalogen Compounds*, 1998, vol. 39, pp. 253-256.
- [15] FROMME, H.; OTTO, T.; PILZ, K.: Polycyclic musk fragrances in different environmental compartments in Berlin (Germany). *Water Research*, 2001, vol. 35, pp. 121-128.
- [16] LEE, I.-S.; LEE, S.-H.; OH, J.-E.: Occurrence and fate of synthetic musk compounds in water environment. *Water Research*, 2010, vol. 44, pp. 214-222.
- [17] HUTTER, H.-P.; WALLNER, P.; HARTL, W.; UHL, M.; LORBEER, G.; GMINSKI, R.; MERSCH-SUNDERMANN, V.; KUNDI, M.: Higher blood concentrations of synthetic musks in women above fifty years than in younger women. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 2010, vol. 213, pp. 124-130.
- [18] DUEDAHL-OLESEN, L.; CEDERBERG, T.; PEDERSEN, K. H.; HØJGÅRD, A.: Synthetic musk fragrances in trout from Danish fish farms and human milk. *Chemosphere*, 2005, vol. 61, pp. 422-431.

- [19] HUTTER, H.-P.; WALLNER, P.; MOSHAMMER, H.; HARTL, W.; SATTELBERGER, R.; LORBEER, G.; KUNDI, M.: Synthetic musks in blood of healthy young adults: Relationship to cosmetics use. *Science of the Total Environment*, 2009, vol. 407, pp. 4821-4825.
- [20] MERSCH-SUNDERMANN, V.; EMIG, M.; REINHARDT, A.: Nitro musks are cogenotoxicants by inducing toxifying enzymes in the rat. *Mutation Research*, 1996, vol. 356, pp. 237-245.
- [21] MAEKAWA, A.; MATSUSHIMA, Y.; ONODERA, H.; SHIBUTANI, M.; OGASAWARA, H.; KODAMA, Y.; KUROKAWA, Y.; HAYASHI, Y.: Long-term toxicity / carcinogenicity of musk xylol in B6C3F1 mice. *Food and Chemical Toxicology*, 1990, vol. 28, pp. 581-586.
- [22] KEVEKORDES, S.; MERSCH-SUNDERMANN, V.; DIEZ, M.; DUNKELBERG, H.: In vitro genotoxicity of polycyclic musk fragrances in the micronucleus test. *Mutation Research / Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 1997, vol. 395, pp. 145-150.
- [23] API, A. M.; SAN, R. H. C.: Genotoxicity tests with 6-acetyl-1,1,2,4,4,7-hexamethyltetraline and 1,3,4,6,7,8-hexahydro-4,6,6,7,8,8-hexamethylcyclopenta-g-2-benzopyran. *Mutation Research*, 1999, vol. 446, pp. 67-81.
- [24] SCHREURS, R. H. M. M.; QUAEDACKERS, M. E.; SEINEN, W.; VAN DER BURG, B.: Transcriptional activation of estrogen receptor ER-alpha and ER-beta by polycyclic musks is cell type dependent. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2002, vol. 183, pp. 1-9.
- [25] API, A. M.; SMITH, R. L.; PIPINO, S.; MARCZYLO, T.; MATTEIS, F.: Evaluation of the oral subchronic toxicity of AHTN (7-Acetyl-1,1,3,4,4,6-hexamethyl-1,2,3,4-tetrahydronaphthalene) in the rat. *Food and Chemical Toxicology*, 2004, vol. 42, pp. 791-801.
- [26] STEINBERG, P.; FISCHER, T.; ARAND, M.; PARK, E.; ELMADFA, I.; RIMKUS, G.; BRUNN, H.; DIENES, H.-P.: Acute hepatotoxicity of the polycyclic musk 7-acetyl-1,1,3,4,4,6-hexamethyl-1,2,3,4-tetrahydronaphthalene (AHTN). *Toxicology Letters*, 1999, vol. 111, pp. 151-160.
- [27] API, A. M.; FORD, R. A.: Evaluation of the oral subchronic toxicity of HHCB (1,3,4,6,7,8-hexahydro-4,6,6,7,8,8-hexamethylcyclopenta-γ-2-benzopyran) in the rat. *Toxicology Letters*, 1999, vol. 111, pp. 143-149.

- [28] BESTER, K.: Analysis of musk fragrances in environmental samples. *Journal of Chromatography A*, 2009, vol. 1216, pp. 470-480.
- [29] CARABIAS-MARTÍNEZ, R.; RODRÍGUEZ-GONZALO, E.; REVILLA-RUIZ, P.; HERNÁNDEZ-MÉNDEZ, J.: Pressurized liquid extraction in the analysis of food and biological samples. *Journal of Chromatography A*, 2005, vol. 1089, pp. 1-17.
- [30] POPL, M.; FÄHNRIK, J.: *Analytická chemie životního prostředí*. 4. vyd. Praha: VŠCHT, 1999. 218 s. ISBN 80-7080-336-3.
- [31] PIETROGRANDE, M. CH.; BASAGLIA, G.: GC-MS analytical methods for the determination of personal-care products in water matrices. *Trends in Analytical Chemistry*, 2007, vol. 26, pp. 1086-1094.
- [32] KUKLENYIK, Z.; BRYANT, X. A.; NEEDHAM, L. L.; CALAFAT, A. M.: SPE/SPME–GC/MS approach for measuring musk compounds in serum and breast milk. *Journal of Chromatography B*, 2007, vol. 858, pp. 177-183.
- [33] WANG, Y.-CH.; DING, W.-H.: Determination of synthetic polycyclic musks in water by microwave-assisted headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 2009, vol. 1216, pp. 6858-6863.
- [34] MACHADO, S.; GONCALVES, C.; CUNHA, E.; GUIMARÃES, A.; ALPENDURADA, M. F.: New developments in the analysis of fragrances and earthy-musty compounds in water by solid-phase microextraction (metal alloy fibre) coupled with gas chromatography – (tandem) mass spectrometry. *Talanta*, 2011, vol. 84, pp. 1133-1140.
- [35] YANG, J.-J.; METCALFE, CH. D.: Fate of synthetic musks in a domestic wastewater treatment plant and in an agricultural field amended with biosolids. *Science of the Total Environment*, 2006, vol. 363, pp. 149-165.
- [36] BESTER, K.; HÜHNERFUSS, H.; LANGE, W.; RIMKUS, G. G.; THEOBALD, N.: Results of non target screening of lipophilic organic pollutants in the German bight II: Polycyclic musk fragrances. *Water Research*, 1998, vol. 32, pp. 1857-1863.

7 PROFIL AUTORA

OSOBNÍ ÚDAJE:

Jméno a příjmení, titul: **Libor Zouhar, Ing.**
Datum narození: 11. 6. 1985
Adresa: Koutného 1, 628 00, Brno
E-mail:: Libor.Zouhar@seznam.cz

VZDĚLÁNÍ:

- od roku 2009** **Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická**
Typ studia: *doktorské*
Obor: *Chemie životního prostředí*
Téma dizertační práce: *Studium průniku „musk“ sloučenin do abiotických a biotických složek vodních ekosystémů*
- 2007 – 2009** **Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická**
Typ studia: *magisterské navazující*
Obor: *Chemie a technologie ochrany životního prostředí*
Téma diplomové práce: *Syntetické vonné látky ve vodní biotě*
- 2004 – 2007** **Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická**
Typ studia: *bakalářské*
Obor: *Chemie a technologie ochrany životního prostředí*
Téma bakalářské práce: *Polycyklické aromatické uhlovodíky, jejich toxicita a analytické metody stanovení v objektech životního prostředí*
- 2000 – 2004** **Střední průmyslová škola chemická Brno**
Obor: *Aplikovaná chemie - farmaceutické substance*
Maturitní zkouška: *český jazyk, anglický jazyk, chemická technologie, analytická chemie, praktická zkouška z chemie*

PRAXE:

- 1. 1. – 30. 6. 2010** **Zkušební akreditovaná laboratoř České geologické služby**
pobočka Brno [úvazek 04]
výzkumný a vývojový pracovník (metoda GC/MS)

KONFERENCE:

5th Meeting on Chemistry and Life

[FCH VUT Brno, 14. – 16. 9. 2011; posterová prezentace]

The 16th International MESAEP Symposium on Environmental Pollution and its Impact on Life in the Mediterranean Region

[Ioannina (Řecko), 24. – 27. 9. 2011; posterová prezentace]

Chemie a společnost 2011/12 – Studentská odborná konference

[FCH VUT Brno, 16. 2. 2012; prezentace]

7th European Conference on Pesticides and Related Organic Micropollutants in the Environment + 13th Symposium on Chemistry and Fate of Modern Pesticides [Porto (Portugalsko), 7. – 10. 10. 2012; posterová prezentace]

KURZY, SEMINÁŘE:

- Nový směr v kapalinové chromatografii [Brno, 10. 9. 2009]
- Škola hmotnostní spektrometrie (10. ročník) [Seč – Ústupky, 14. – 18. 9. 2009]
- Rychlé chromatografické metody pro mnoho analytů v různých matricích: „Trend v analýze potravin a životního prostředí“ [Praha, VŠCHT, 11. 2. 2010]
- Škola hmotnostní spektrometrie (11. ročník) [Pec pod Sněžkou, 20. – 24. 9. 2010]
- Analýza organických látek v životním prostředí [Komorní Lhotka, 18. – 20. 10. 2010]

PROJEKTY:

Využití chemických, biochemických a toxikologických metod k hodnocení zátěže ekosystémů (projekt FCH-S-11-2, 2010, specifický výzkum)

Hodnocení zátěže ekosystému prioritními polutanty (projekt FCH-S-11-3, 2011, specifický výzkum)

Výskyt polybromovaných difenyletherů ve vodním ekosystému (projekt FRVŠ č. 2366/2011/G4, spoluřešitel, 2011)

Využití vhodných statistických metod pro hodnocení kontaminace biotických matric (projekt FRVŠ č. 1989/2012/G4, řešitel, 2012)

Posouzení úrovně kontaminace vodního a terestrického ekosystému (projekt FCH-S-11-4, 2012, specifický výzkum)

8 PUBLIKAČNÍ ČINNOST

Impaktované publikace:

VÁVROVÁ, M.; KUBÍČKOVÁ, K.; **ZOUHAR, L.**; MRAVCOVÁ, L.; ČÁSLAVSKÝ, J.: Syntetické vonné látky a jejich stanovení ve vodním ekosystému. *Chemické listy*, 2010, roč. 104, s. 620-621. ISSN 0009-2770 [**IF 0,620** (2010)].

ZOUHAR, L.; VÁVROVÁ M.; MRAVCOVÁ, L.; KUBÍČKOVÁ, K.; VEČEREK, V.: Evaluation of Wastewater Contamination by Musk Compounds. *Fresenius Environmental Bulletin*, 2012, vol. 21, no. 11a, pp. 3352-3356. ISSN 1018-4619 [**IF 0,660** (2011)].

Ostatní publikace:

KUBÍČKOVÁ, K.; VÁVROVÁ, M.; **ZOUHAR, L.**; VEČEREK, V.: Stanovení musk sloučenin ve složkách životního prostředí. In *sborník XVIII. vědeckého sympózia s mezinárodní účastí; téma: Situace v ekologicky zatížených regionech Slovenska a střední Evropy, Hrádek, 22.-23. 10. 2009.* s. 92-96. ISBN 978-80-970034-1-8.

VÁVROVÁ, M.; **ZOUHAR, L.**; ČÁSLAVSKÝ, J.; KUBÍČKOVÁ, K.: MUSK Compounds in Water Ecosystem and Water Biota. In *10th European Meeting on Environmental Chemistry (EMEC): Book of Abstracts. Limoges, France, 2-5 December, 2009*, p. 15.

KUBÍČKOVÁ, K.; VÁVROVÁ, M.; **ZOUHAR, L.**: Stanovení koncentrace syntetických vonných látek v odpadních vodách z ČOV Brno-Modřice pomocí SPME. *Závěrečná zpráva pro interní grantovou agenturu*, 2010.

ZOUHAR, L.; VÁVROVÁ, M.; MRAVCOVÁ, L.; KUBÍČKOVÁ, K.: Problematika stanovení musk sloučenin v odpadní vodě. In *Sborník přednášek ze semináře: Analýza organických látek v životním prostředí, Komorní Lhotka, 18.-20. 10. 2010.* Ed. Ing. Václav Helán – 2 THETA. Český Těšín, 2010, s. 138-142. ISBN 978-80-86380-54-4.

VÁVROVÁ, M.; KUBÍČKOVÁ, K.; **ZOUHAR, L.**; MRAVCOVÁ, L.; ČÁSLAVSKÝ, J. Syntetické vonné látky a jejich stanovení ve vodním ekosystému. *Abstrakt přednášky na 62. sjezd asociací českých a slovenských chemických společností*, Pardubice, 2010.

ZLÁMALOVÁ GARGOŠOVÁ, H.; DOLEŽALOVÁ WEISSMANNOVÁ, H.; VÁVROVÁ, M.; MRAVCOVÁ, L.; VYDROVÁ, L.; **ZOUHAR, L.**: *The use of methods of environmental analysis and ecotoxicological tests in the evaluation of wastewater*. In Waste water - evaluation and management. Rijeka, Croatia: InTech, 2011. p. 3-30. ISBN 978-953-307-233- 3.

ZOUHAR, L.; VÁVROVÁ, M.; KUBÍČKOVÁ, K.; MRAVCOVÁ, L.: Determination of Synthetic Musk Compounds in Waste Water. In *5th Meeting on Chemistry and Life: Book of Abstracts*. Chemické listy (S), Brno: Fakulta chemická VUT v Brně, 2011, roč. 105, s. 982. ISSN 0009-2770.

VÁVROVÁ, M.; TYLICHOVÁ, P.; **ZOUHAR, L.**; ČÁSLAVSKÝ, J.; STOUPALOVÁ, M.; VEČEREK, V.: Synthetic Aromatic Substances in Wastewaters. In *5th Meeting on Chemistry and Life: Book of Abstracts*. Chemické listy (S), Brno: Fakulta chemická VUT v Brně, 2011, roč. 105, s. 969. ISSN 0009-2770.

FUSEK, M.; **ZOUHAR, L.**; MICHÁLEK, J.; VÁVROVÁ, M.: Comparison of Evaluations of Biotic Matrices Contamination Based on Incomplete Data Sets. In *Proceedings of the 22nd Annual Conference of The International Environmetrics Society. Hyderabad, India, 2012*. p. 48-48.

ZOUHAR, L.; VÁVROVÁ, M.; TYLICHOVÁ, P.: Determination of Linear Musk Compounds in Waste Water. In *sborník abstraktů studentské odborné konference Chemie a společnost 2011/12, Brno, 16. 2. 2012*. Ed. Ing. Petr Dzik, Ph.D. Brno: Fakulta chemická VUT Brno, 2012. s. 40-40. ISBN 9788-80-214-4426-3.

ZOUHAR, L.; VÁVROVÁ, M.; FUSEK, M.; MICHÁLEK, J.: Evaluation of the Water Biota Contamination by Musk Compounds. In *7th European Conference on Pesticides and Related Organic Micropollutants in the Environment and 13th Symposium on Chemistry and Fate of Modern Pesticides: Book of Abstracts. Porto, Portugal, October 7-10, 2012*. Ed. M. de Fátima Alpendurada. Matosinhos: IAREN, 2012, p. 263-264. ISBN 978-989-20-3263-4.